Ni^{2+} 胁迫对斜纹夜蛾幼虫血淋巴中能量物质水平的适应性调节

孙虹霞[1,2]，夏　嫱[3]，唐文成[2]，张古忍[2,*]，党　志[1]

（1. 华南理工大学环境科学与工程学院/工业聚集区污染控制与生态修复教育部重点实验室，广州 510006；
2. 中山大学有害生物控制与资源利用国家重点实验室/昆虫学研究所，广州 510275；
3. 遵义医学院珠海校区免疫学与病原生物学教研室，广东珠海 519041）

摘要：为明确食物中重金属胁迫对昆虫血淋巴能量物质和生长的影响，本研究测定了饲料中不同浓度的 Ni^{2+}(1～40 mg/kg)对连续3个世代斜纹夜蛾 *Spodoptera litura* Fabricius 5龄始龄(0 h)至6龄末幼虫(分别记为0，24，48，72，96和120 h幼虫)血淋巴中能量物质总糖、蛋白质和脂肪含量，血淋巴中热量值及5龄和6龄幼虫体重的影响。结果表明：第1和2代48 h和96 h幼虫血淋巴的总糖含量均低于对照；而连续3代其他处理幼虫血淋巴中的总糖含量均在低浓度 Ni^{2+}(1～5 mg/kg)胁迫下增高，在高浓度 Ni^{2+}(20～40 mg/kg)胁迫下降低。连续3个世代的 Ni^{2+} 胁迫均显著降低了0～48 h幼虫血淋巴中的蛋白含量；低浓度 Ni^{2+}(1～5 mg/kg)胁迫增加了连续3代72～120 h幼虫血淋巴中的蛋白含量，而高浓度 Ni^{2+}(20～40 mg/kg)胁迫只降低了第1代72～120 h幼虫以及第2代72 h幼虫血淋巴中的蛋白含量。第1代0 h，48～72 h和120 h幼虫血淋巴中的脂肪含量在1～20 mg/kg Ni^{2+} 胁迫下均高于对照，但24 h和96 h幼虫血淋巴中的脂肪含量均低于对照中的含量。连续3代0～48 h幼虫血淋巴中的热量值均随饲料中 Ni^{2+} 浓度的增加而降低；低浓度 Ni^{2+} 胁迫(1～5 mg/kg)增加，而高浓度 Ni^{2+}(20～40 mg/kg)的胁迫降低第2和3代72 ～120 h幼虫血淋巴中热量值。同时，低浓度 Ni^{2+} 胁迫增加而高浓度 Ni^{2+} 胁迫降低了第3代5龄和6龄幼虫的体重。因此推测，Ni^{2+} 胁迫对 *S. litura* 幼虫血淋巴的能源物质含量以及热量值的影响与能量物质的种类、虫体的发育阶段和 Ni^{2+} 的胁迫世代等都有一定的联系。

关键词：斜纹夜蛾；Ni^{2+}；血淋巴；总糖；蛋白质；脂肪；热量值

中图分类号：Q966　　**文献标识码**：A　　**文章编号**：0454-6296(2010)04-0361-08

Regulation of energy reserves in the hemolymph of *Spodoptera litura* Fabricius larvae under nickel stress

SUN Hong-Xia[1,2], XIA Qiang[3], TANG Wen-Cheng[2], ZHANG Gu-Ren[2,*], DANG Zhi[1] (1. School of Environmental Science and Engineering, South China University of Technology/The Key Laboratory of Pollution Control and Ecosystem Restoration in Industry Clusters, Ministry of Education, Guangzhou 510006, China; 2. State Key Laboratory for Biological Control & Institute of Entomology, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510275, China; 3. Zhuhai Campus, Zunyi Medical College, Zhuhai, Guangdong 519041, China)

Abstract: Impacts of dietary nickel (1 -40 mg/kg) on the development and the energy reserves in the hemolymph of the 5th and 6th instar larvae of *Spodoptera litura* Fabricius were investigated by feeding *S. litura* larvae with the artificial diets amended with different doses of nickel (1, 5, 10, 20 and 40 mg/kg) for 3 generations. The results indicated that the contents of total sugars in the hemolymph of larvae of 48 h and 96 h in the 1st and 2nd generation were all lower than that in the control. However, the contents of total sugars in the hemolymph of larvae at other treatments in the successive 3 generations increased at low-level nickel exposure (1 -5 mg/kg), while decreased at high-level nickel exposure (20 -40 mg/kg). Exposure to nickel for three successive generations significantly lowered the content of proteins in comparison with that in the control. The contents of proteins in the hemolymph of 72 -120 h larvae in the successive 3 generations were higher than that in the control after low-level nickel exposure. However, high-level nickel exposure only

基金项目：国家重点基础研究发展规划项目(2006CB102001)；国家自然科学基金项目(30771458)；国家教育部博士点专项基金(20070558029)；珠海市科技计划项目(PC20061049)；遵义医学院博士启动基金

作者简介：孙虹霞，女，1978年12月生，助理研究员，从事污染土壤的微生物修复研究，E-mail：sunhongxia17@yahoo.com.cn

*通讯作者 Corresponding author，E-mail：zhanggr@mail.sysu.edu.cn

收稿日期 Received：2009-09-04；接受日期 Accepted：2010-03-28

decreased the content of proteins in the larvae of 72 – 120 h in the 1st generation and 72 h in the 2nd generation. Higher contents of lipids were observed in the hemolymph of larvae of 0, 48 – 72 h and 120 h in the 1st generation after 20 – 40 mg/kg nickel exposure in comparison with that in the control. The contents of lipids in the larvae of 24 and 96 h were lower than that in the control. Caloric values in the hemolymph of larvae of 0 – 48 h decreased with the increasing nickel levels in the successive 3 generations. However, caloric values in the hemolymph of larvae of 72 – 120 h in the 2nd and 3rd generation increased after low-level nickel exposure (1 – 5 mg/kg), while decreased after high-level nickel exposure (20 – 40 mg/kg). Moreover, the weights of the 5th and 6th instar larvae increased at low-level nickel exposure, but decreased at high-level nickel exposure. Therefore, it is inferred that the effects of nickel on the energy reserves of *S. litura* larvae are related with the type of energy substances in their bodies, their developmental stage and the number of successive generations exposed to nickel.

Key words: *Spodoptera litura*; nickel; hemolymph; total sugars; proteins; lipids; caloric value

在重金属胁迫下，生物体的生化、组织化学和生理反应都会发生特定的变化，以防御重金属的危害(孙虹霞等, 2007)。在此过程中，生物体的能量代谢常受到间接的影响(Berntssen and Lundebye, 2001)。

受重金属胁迫的生物可通过调整能量物质的代谢保持内环境的稳定。生物体能量代谢的变化不仅可代表群落的整体适合度(Dequesne *et al*., 2004)，还是个体细胞整合效应的表现(Miliou *et al*., 1998)；并且，其变化早于个体生长发育的改变。再者，生物体能量物质的变化也是环境监测中的重要指示物(Bentivegna, 2002)。研究表明，能量代谢的前导子(碳水化合物、蛋白质和脂肪)的变化最终会对机体的热量值(卡路里含量)及生长造成影响。Wu 等(2006)探讨了受 Cd 和 Cu 胁迫的棕尾别麻蝇 *Boettcherisca peregrina* 能量化合物和生长发育的关系。

鳞翅目、鞘翅目、双翅目等昆虫都可通过调整能量物质的组成和水平而保持能量储存的平衡(Schmidt *et al*., 1992; Gintenreiter *et al*., 1993; Ortel, 1995; Shin *et al*., 2001; Chinni and Yallapragada, 2002)。为了更全面地研究重金属胁迫对昆虫生理行为的影响，本研究在实验室条件下，测定了受不同浓度 Ni^{2+} 连续胁迫的 3 个世代的植食性昆虫斜纹夜蛾 *Spodoptera litura* Fabricius 5 龄始龄(0 h)至 6 龄末幼虫血淋巴中总糖、可溶性蛋白质、脂肪含量及热量值在 120 h 内的变化情况，并记录了 5 龄和 6 龄末幼虫体重的变化，以了解受重金属胁迫昆虫的代谢的变化和途径的调整，以期更多了解昆虫对重金属胁迫的适应机制。

1 材料和方法

1.1 斜纹夜蛾幼虫的饲养和 Ni^{2+} 的胁迫处理

斜纹夜蛾系中山大学昆虫学研究所养虫室人工饲料(陈其津等, 2000)饲养(26 ± 1℃, 16L:8D, RH 75% ± 5%)。在人工饲料中添加不同浓度的 Ni^{2+}，并以此连续 3 代饲喂斜纹夜蛾幼虫。以第 1 代幼虫化蛹后，羽化成虫所产的卵作为第 2 代虫源，第 3 代依此类推，每天更换饲料并连续胁迫 3 代。

根据 Garrido 等(2005)的报道，当蔬菜中的 Ni^{2+} 含量达到 10 ~ 30 mg/kg 时，就会对蔬菜产生毒害作用。鉴于此，将 $NiCl_2$ 添加在人工饲料中，使 Ni^{2+} 终浓度分别为 1, 5, 10, 20 和 40 mg/kg。以不添加 $NiCl_2$ 饲料饲养的斜纹夜蛾为对照。

1.2 血淋巴材料的收集

当幼虫进入 5 龄后直至 6 龄末，每隔 24 h 从各处理中随机挑选大小均匀的 30 头幼虫，分别记为进入 0, 24, 48, 72, 96 及 120 h 幼虫。将幼虫冰上麻醉，酒精棉球消毒虫体后，毛细管自腹足取血淋巴。不同发育阶段虫体内的血淋巴直接放入置于冰上的预先加有苯基硫脲的 Eppendorf 管中，混匀后，4℃ 10 000 g 离心 5 min, –80℃备用。

1.3 总糖含量的测定

参照冯慧(1989)的方法，在一定量的血淋巴上清液中加入磺基水杨酸溶液至终浓度为 10%，15 000 rpm 离心 10 min 以除去蛋白质沉淀。采用生理盐水液稀上清释，其中 0, 24, 48, 72, 96 及 120 h 幼虫期稀释倍数分别为 10, 14, 20, 60, 60 和 60，蛹和成虫期稀释倍数分别为 100 倍，并保持最终稀释液的量为 1 mL。将稀释后的溶液中加入 0.2% 蒽酮浓硫酸试剂 5 mL，在沸水浴中加热 10 min，冷却后于 620 nm 处进行比色测定。以 0.01% 的葡萄糖制作标准曲线。

1.4 可溶性蛋白浓度的测定

可溶性蛋白的测定依据 Bradford (1976) 的方法进行测定。取 1.2 中的血淋巴上清液，其中 0, 24, 48, 72, 96 及 120 h 幼虫期上清液分别用生理盐水稀释 10, 10, 10, 20, 20 和 33 倍，而蛹和成虫期上清液稀释 100 倍后，加入考马斯亮蓝-G 染

色 3 ~5 min，而后于紫外/可见分光光度计中测定样品 OD_{590}，并以 1 mg/mL 牛血清蛋白为标准蛋白制定标准曲线。

1.5　脂肪含量的测定

血淋巴中的脂肪含量采用含磷香草醛酸法(Nakamatsu and Tanaka，2003)测定。取出幼虫血淋巴 5 μL，蒸馏水补足至 100 μL 后，加入 0.5 mL 氯仿于室温静止 10 min；然后加入 0.5 mL 的浓 H_2SO_4，沸水中加热 10 min，冷却至室温。最后加入 1 mL 含磷香草醛溶液(在 14 mol/L 的磷酸中加入 13 mol/L 香草醛)，混匀后，在室温下置 30 min，测 OD_{547}值。以胆固醇(含 2.5 mg/mL 甲醇)制作标准曲线。

1.6　热量值总卡路里的计算

参照 Graney 和 Giesy (1986)的方法，假定脂类的热量值为 9.5 cal/mg，糖的热量值为 4.3 cal/mg，蛋白的热量值为 4.1 cal/mg 来计算热量值总卡路里数值(cal/mL)。

1.7　Ni^{2+}胁迫对 5 龄和 6 龄幼虫体重的影响

每天观察幼虫发育情况，分别收集连续 3 个世代 48 h 和 120 h 幼虫各 40 头，分别记为 5 龄和 6 龄末幼虫，记录其体重。

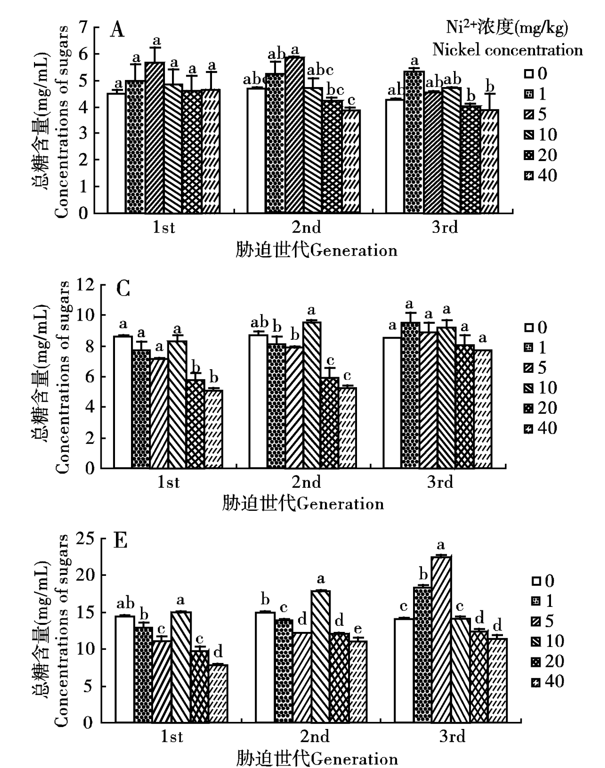
1.8　数据统计与分析

不同发育阶段斜纹夜蛾虫体血淋巴中的可溶性蛋白、总糖、脂肪含量、总的卡路里值和幼虫体重经 $\log_{10}(x+1)$转换后，进行单因素方差分析(SAS 8.1，1989)，以阐明对照虫体与不同处理虫体血淋巴中能量物质及卡路里值间差异的显著性。

2　结果和分析

2.1　Ni^{2+}胁迫对斜纹夜蛾幼虫血淋巴能量物质水平的影响

2.1.1　Ni^{2+}胁迫对斜纹夜蛾幼虫血淋巴总糖含量的影响：Ni^{2+}胁迫对连续 3 个世代不同阶段幼虫血淋巴中总糖含量影响及方差分析结果见图 1。结果表明，连续 3 代 5 龄始龄(0 h)，24 h，72 h 和 120 h 幼虫，以及第 3 代 48 h 和 96 h 幼虫血淋巴中的总糖含量均在低浓度 Ni^{2+} (1 ~5 mg/kg)胁迫下增高，在高浓度 Ni^{2+} (20 ~40 mg/kg)胁迫下降低。除受 10 mg/kg Ni^{2+}胁迫处理外，第 1 和 2 代 48 h 和 96 h 幼虫血淋巴的总糖含量均低于对照。



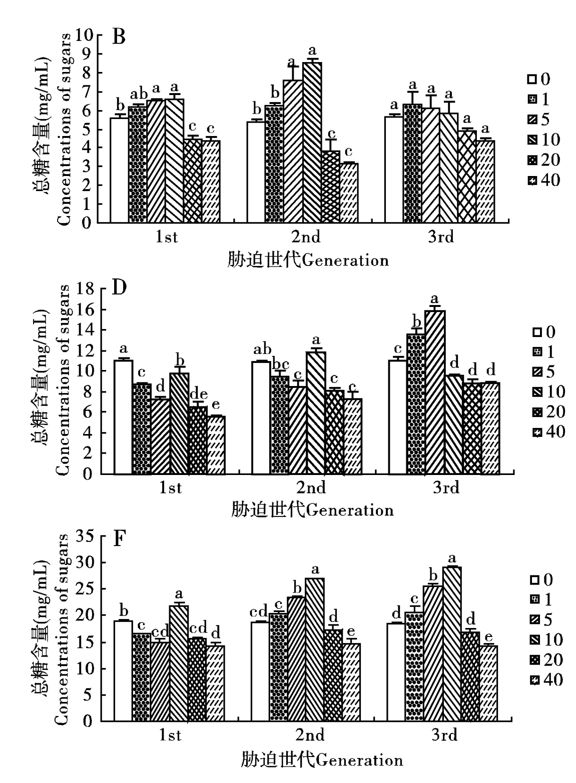


图 1　连续 3 代取食含不同浓度 Ni^{2+}饲料的斜纹夜蛾幼虫血淋巴的总糖含量

Fig. 1　Contents of total sugars in the hemolymph of the 5th instar of *Spodoptera litura* larvae exposed to different concentrations of nickel in diet for 3 generations.

A: 0 h; B: 24 h; C: 48 h; D: 72 h; E: 96 h; F: 120 h. 同一世代柱形图上不同的小写字母表示同一世代虫体血淋巴中的总糖含量在不同处理间存在显著差异($P<0.05$)。Different small letters in the same generation mean that the contents of total sugars in the treated larvae are significantly different among treatments ($P<0.05$).

2.1.2 Ni^{2+}胁迫对斜纹夜蛾幼虫血淋巴蛋白质含量的影响：连续 3 个世代的 Ni^{2+}胁迫均显著的降低了 5 龄始龄(0 h)，24 h 和 48 h 幼虫血淋巴中的蛋白含量(受 1 mg/kg Ni^{2+}胁迫的第 3 代 24 h 和48 h幼虫血淋巴的蛋白含量显著高于对照)，且血淋巴中的蛋白含量随饲料中 Ni^{2+}浓度的增加而减少(图 2)。

除受 1 mg/kg Ni^{2+}胁迫的第 1 代 72 h 处理外，低浓度 Ni^{2+}(1 ~ 5 mg/kg)胁迫增加了连续 3 代 72 ~ 120 h 幼虫血淋巴中的蛋白含量；同时 10 mg/kg Ni^{2+}胁迫也增加了 96 ~ 120 h 幼虫血淋巴中的蛋白含量；高浓度 Ni^{2+}(20 ~ 40 mg/kg)胁迫只降低了第 1 代 72 ~ 120 h 幼虫以及第 2 代 72 h 幼虫血淋巴中的蛋白含量，而第 3 代 72 h 幼虫以及第 2 和 3 代 96 ~ 120 h 幼虫血淋巴中的蛋白含量呈增加趋势(除受 40 mg/kg Ni^{2+}胁迫的第 3 代 120 h 幼虫外)(图 2)。

2.1.3 Ni^{2+}胁迫对斜纹夜蛾幼虫血淋巴脂肪含量的影响：第 1 代 5 龄始龄(0 h)，48 h，72 h 和 120 h 幼虫血淋巴中的脂肪含量在 1 ~ 20 mg/kg Ni^{2+}胁迫下高于对照，但在最高浓度 Ni^{2+}胁迫下均低于对照；而 24 h 和 96 h 幼虫血淋巴中的脂肪含量均低于对照中的含量(图 3)。

2.1.4 Ni^{2+}胁迫对斜纹夜蛾幼虫血淋巴热量值的影响：连续 3 代 5 龄始龄(0 h)，24 h 和 48 h 幼虫血淋巴中的热量值均随饲料中 Ni^{2+}浓度的增加而降低(除受 1 mg/kg Ni^{2+}胁迫的第 3 代 24 h 和 48 h 幼虫外)。低浓度 Ni^{2+}胁迫(1 ~ 5 mg/kg)可增加连续 3 代代 72 ~ 120 h 幼虫血淋巴中热量值，而高浓度 Ni^{2+}(20 ~ 40 mg/kg)的胁迫降低虫体血淋巴中的能量值(图 4)。

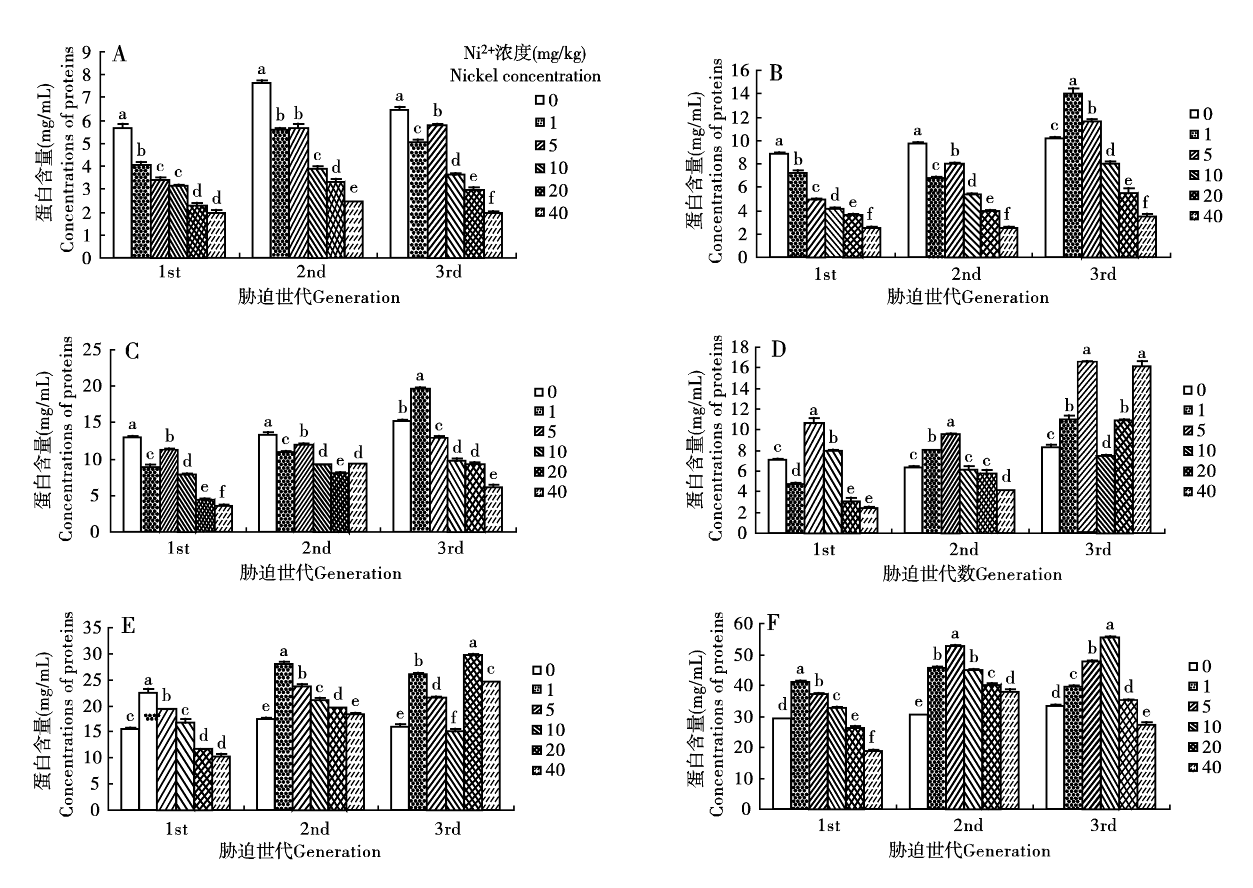


图 2 连续 3 代取食含不同浓度 Ni^{2+}饲料的斜纹夜蛾幼虫血淋巴的蛋白质含量

Fig. 2 Contents of total proteins in the hemolymph of *Spodoptera litura* larvae exposed to different concentrations of nickel in diet for 3 generations

A: 0 h; B: 24 h; C: 48 h; D: 72 h; E: 96 h; F: 120 h. 同一世代柱形图上不同的小写字母表示同一世代虫体血淋巴中的蛋白含量在不同处理间存在显著差异($P < 0.05$)。Different small letters in the same generation mean that the contents of total proteins in the treated larvae are significantly different among treatments ($P < 0.05$).

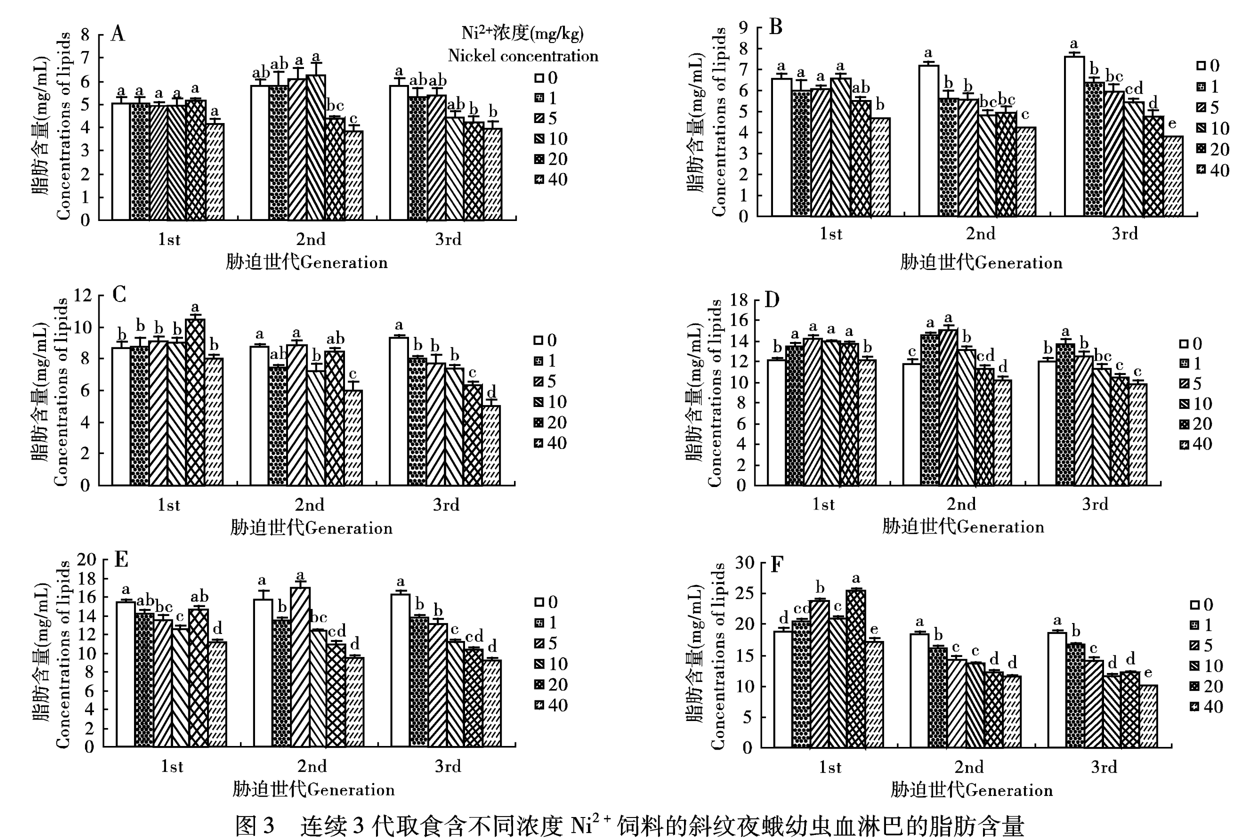


图 3　连续 3 代取食含不同浓度 Ni^{2+} 饲料的斜纹夜蛾幼虫血淋巴的脂肪含量

Fig. 3　Contents of total lipids in the hemolymph of *Spodoptera litura* larvae exposed to different concentrations of nickel in diet for 3 generations

A: 0 h; B: 24 h; C: 48 h; D: 72 h; E: 96 h; F: 120 h. 同一世代柱形图上不同的小写字母表示同一世代虫体血淋巴中的脂肪含量在不同处理间存在显著差异($P<0.05$)。Different small letters in the same generation mean that the contents of total lipids in the treated larvae are significantly different among treatments ($P<0.05$).

2.1.5　Ni^{2+}胁迫对斜纹夜蛾幼虫血淋巴能量物质影响的变化趋势：由 2.1.1～2.1.4 节的结果得出，除少数例外，连续 3 代 5 龄斜纹夜蛾幼虫(0～48 h 幼虫)血淋巴的总糖在低浓度 Ni^{2+}胁迫下增加，在高浓度 Ni^{2+}胁迫下降低，而蛋白质、脂肪和热量值均低于对照虫体中的值。然而，6 龄幼虫(72～120 h 幼虫)血淋巴中的总糖、蛋白质和脂肪含量，以及热量值均在低浓度 Ni^{2+}胁迫下增加，在高浓度 Ni^{2+}胁迫下降低。

2.2　Ni^{2+}胁迫对斜纹夜蛾 5 龄和 6 龄幼虫体重的影响

只受 Ni^{2+}胁迫 1 代的 5 龄和 6 龄幼虫的体重均大于对照的体重，但最高值分别出现在受 10 和 5 mg/kg Ni^{2+}胁迫的处理中。第 2 和 3 代 5 龄和 6 龄幼虫的体重均在低浓度 Ni^{2+}(1～5 mg/kg)胁迫下增加，在高浓度 Ni^{2+}胁迫下降低。

在低浓度 Ni^{2+}(1～5 mg/kg)胁迫下，第 2 代 6 龄幼虫和第 3 代 5 龄和 6 龄幼虫的体重均显著高于对照。第 2 和 3 代 5 龄和 6 龄幼虫的体重均在最高浓度 40 mg/kg Ni^{2+}胁迫的处理中显著低于对照虫体的体重(表 1)。

3　讨论

热量值即卡路里的变化不仅可用来评估重金属胁迫对生物体的生理毒理效应(Chinni and Yallapragada, 2002)，而且意味着能量的存储及机体的生长也会受到影响。5 龄幼虫血淋巴中的热量值随饲料中 Ni^{2+}浓度的增加而降低，但只有第 3 代 5 龄幼虫的生长受到了显著的影响。这可能是第 1 和 2 代 5 龄幼虫体内积累的 Ni^{2+}含量较低，且取食量较少的原因，幼虫可较快的调整代谢平衡以保障正常的生长发育。不同的是，6 龄幼虫血淋巴中的热量值在低浓度 Ni^{2+}胁迫下增高，在高浓度 Ni^{2+}胁迫下降低。同时，受低浓度 Ni^{2+}及 40 mg/kg Ni^{2+}胁迫的第 2 和 3 代幼虫的体重也受到了显著影响，且和热量值的变化趋于一致。

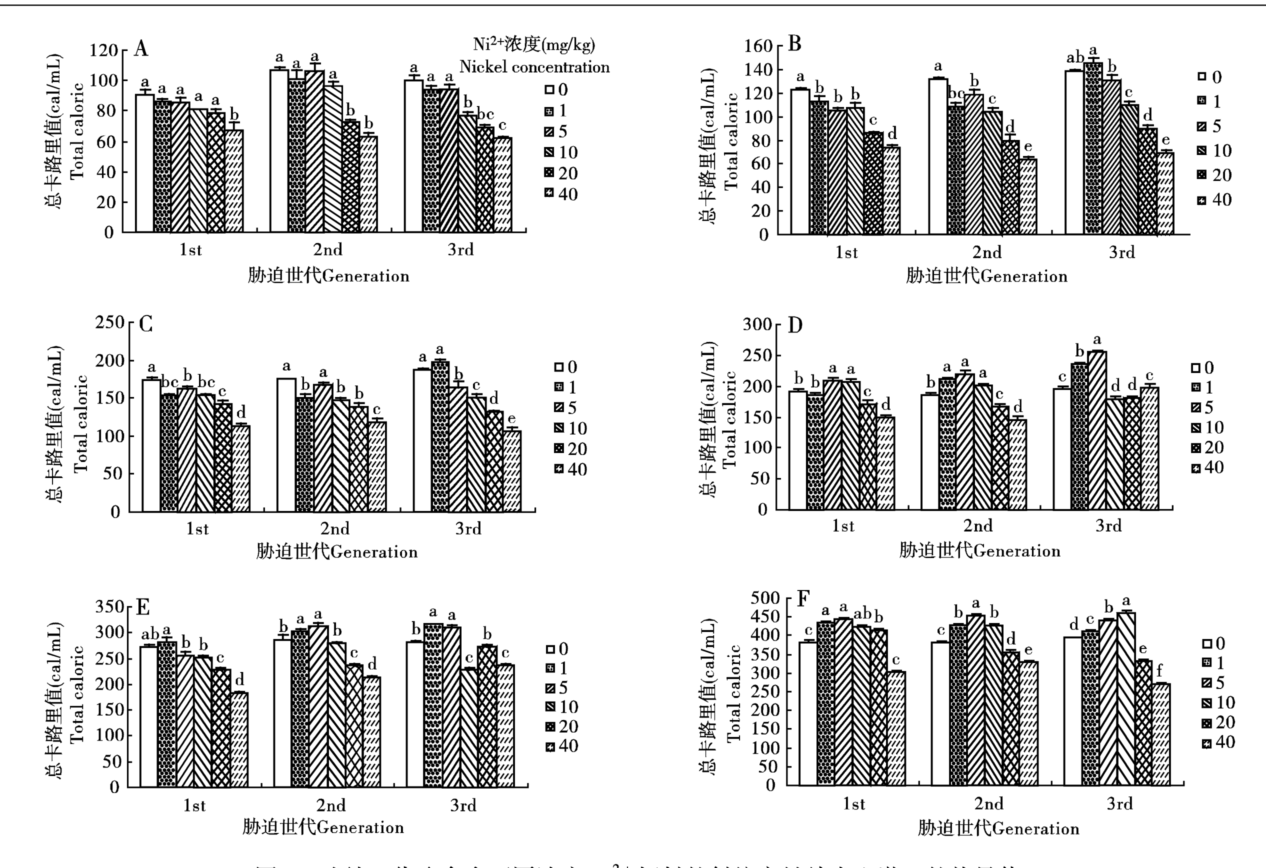


图 4 连续 3 代取食含不同浓度 Ni^{2+} 饲料的斜纹夜蛾幼虫血淋巴的热量值

Fig. 4 Total caloric values in the hemolymph of *Spodoptera litura* larvae exposed to different concentrations of nickel in diet for 3 generations

A: 0 h; B: 24 h; C: 48 h; D: 72 h; E: 96 h; F: 120 h. 同一世代柱形图上不同小写字母表示同一世代虫体血淋巴中的总卡路里值在不同处理间存在显著差异（$P<0.05$）。Different small letters in the same generation mean that the total caloric values in the treated larvae are significantly different among treatments ($P<0.05$).

表 1 斜纹夜蛾连续 3 代幼虫取食含不同 Ni^{2+} 浓度的人工饲料后 5 龄和 6 龄幼虫体重(g)的变化

Table 1 Weights (g) of the 5th and 6th instar larvae of *Spodoptera litura* exposed to different concentrations of nickel in diet for 3 generations

Ni^{2+} 浓度 Nickel concentration (mg/kg)	第 1 代 1st generation		第 2 代 2nd generation		第 3 代 3rd generation	
	5 龄 5th instar	6 龄 6th instar	5 龄 5th instar	6 龄 6th instar	5 龄 5th instar	6 龄 6th instar
0	0.341 ± 0.008 b	1.336 ± 0.035 a	0.346 ± 0.009 b	1.378 ± 0.036 b	0.325 ± 0.009 c	1.320 ± 0.033 c
1	0.348 ± 0.009 b	1.431 ± 0.045 a	0.391 ± 0.006 a	1.526 ± 0.035 a	0.361 ± 0.008 b	1.529 ± 0.039 b
5	0.356 ± 0.008 b	1.478 ± 0.037 a	0.359 ± 0.005 b	1.624 ± 0.039 a	0.393 ± 0.008 a	1.657 ± 0.036 a
10	0.394 ± 0.009 a	1.469 ± 0.059 a	0.361 ± 0.009 b	1.393 ± 0.049 b	0.299 ± 0.007 d	1.286 ± 0.039 c
20	0.362 ± 0.007 b	1.376 ± 0.050 a	0.335 ± 0.009 b	1.367 ± 0.035 b	0.272 ± 0.008 e	1.276 ± 0.038 c
40	0.344 ± 0.011 b	1.349 ± 0.042 a	0.263 ± 0.008 c	1.236 ± 0.040 c	0.251 ± 0.010 e	1.125 ± 0.042 d

同一列中不同的小写字母表示第 5 和 6 龄幼虫体重在不同处理间存在显著差异（$P<0.05$）。Different small letters in the same row mean the weights of the 5th or 6th instar larvae are significantly different among different treatments ($P<0.05$).

热量水平的减少常反映了食物吸入率和吸收率的变化(Maryański *et al.*, 2002)。前期研究表明，低浓度 Ni^{2+} 可促进第 2 和 3 代 6 龄幼虫的取食利用率，但 40 mg/kg Ni^{2+} 显著抑制第 2 代幼虫的取食利用率(未发表数据)。因此，受低浓度 Ni^{2+} 胁迫的 6 龄幼虫取食利用率的增加可能促进了幼虫热量值及体重的增加。

从单个能量物质代谢的角度分析，低浓度 Ni^{2+} 胁迫下，5 龄幼虫主要以血淋巴中的蛋白质作为主要能源物质。在高浓度 Ni^{2+} 胁迫下，第 1 代 5 龄幼虫除利用血淋巴中的蛋白质外，还以总糖作为主要的能源物质；而第 2 和 3 代 5 龄幼虫血淋巴中的总糖、蛋白质和脂肪含量均有所下降。De Boeck 等(1997)曾报道，重金属 Cu 可刺激鲤鱼 *Cyprinus carpio* L. 体内的蛋白质代谢，其释放的氨基酸可作为糖原合成的底物。其他鱼类也可通过减少蛋白含量以保持体内糖原的稳定性(Sheridan and Mommsen, 1991)。因此，蛋白质含量的降低可能对受低浓度 Ni^{2+} 胁迫的 5 龄幼虫起保护作用，从而保障能量代谢的完整性。

在高浓度 Ni^{2+} 胁迫下，1 个世代 Ni^{2+} 的胁迫同时也降低了 5 龄幼虫血淋巴中的总糖含量，此结果与对摇纹 *Chironomus riparius* (Bentivegna, 2002)、欧洲玉黍螺 *Littorina littorea* (L.) (De Wolf *et al.*, 2007)、虹鳟鱼 *Oncorhynchus mykiss* (Ricard *et al.*, 1998)，蟾胡子鲇 *Clarias batrachus* L. (Begum and Vijayaraghavans, 1995) 和大西洋鲑 *Salmo salar* (Soengas *et al.*, 1996) 等研究趋于一致。随胁迫世代的增加，第 2 和 3 代 5 龄幼虫血淋巴中的能量物质含量都低于对照，可能意味着幼虫在对 Ni^{2+} 的解毒过程中比第 1 代幼虫消耗了相对较多的能量。同时，第 2 和 3 代幼虫解毒能力的增强在前期研究中也得到了证实。以解毒蛋白金属硫蛋白(metallothionein, MT)为例，连续 3 代 5 龄 *S. litura* 幼虫中肠的 MT 含量虽然都随饲料中 Ni^{2+} 含量的增加而增加，但第 2 和 3 代的 MT 含量均高于第 1 代中的含量(Sun *et al.*, 2007)。同时，5 龄幼虫中肠的谷胱甘肽转移酶(glutathione S-transferase, GST)活性也随 Ni^{2+} 浓度的增加而增加(Sun *et al.*, 2008)。因此，5 龄幼虫能量物质的变化可能与血淋巴和体内积累的 Ni^{2+} 含量及机体对过量 Ni^{2+} 解毒能力的变化有关。

受 Ni^{2+} 胁迫的 6 龄幼虫血淋巴中能量物质的变化和 5 龄幼虫有所不同。受低浓度 Ni^{2+} 胁迫的幼虫主要以脂肪作为主要的能源物质，而高浓度 Ni^{2+} 的胁迫降低了总糖和脂肪的含量，储存了蛋白质。我们推测，Ni^{2+} 的胁迫可能激活了幼虫的脂类代谢，以满足能量的需求，并供给糖和蛋白质合成的底物。类似地，紫蓝丽盾蝽 *Chrysocoris stolli* (Islam and Roy, 1983)、棕尾别麻蝇 *Boettcherisca peregrina* (Wu *et al.*, 2006) 和舞毒蛾 *Lymantria dispar* (Bischof, 1995) 幼虫体内的脂肪含量在 Cd 胁迫下也会低于对照中的含量。

受 Ni^{2+} 胁迫的 5 龄和 6 龄幼虫血淋巴中的总糖含量都有所下降。通常地，总糖是最易受重金属胁迫而改变的能量物质，其中，海藻糖和糖原受到的影响最大(Berntssen and Lundebye, 2001)。然而，不同发育阶段幼虫及受不同浓度 Ni^{2+} 胁迫幼虫利用两种糖的能力如何，两种糖在机体保持代谢平衡中又发挥着什么作用，这些问题还有待于进一步的研究。

此外，一些受 Ni^{2+} 处理幼虫血淋巴中能量物质的变化未呈现规律性的变化。例如，连续 3 个世代的 Ni^{2+} 胁迫均显著的降低了 5 龄始龄(0 h)、24 h 和 48 h 幼虫血淋巴中的蛋白含量，然而，受 1 mg/kg Ni^{2+} 胁迫的第 3 代 24 h 和 48 h 幼虫血淋巴的蛋白含量显著高于对照；这可能与个体发育的差异，或与实验处理的误差有关。

因此，连续 3 代 Ni^{2+} 的胁迫可对 5 龄始龄至 6 龄末 *S. litura* 幼虫血淋巴的能源物质含量以及热量值产生影响，其影响程度与能量物质的种类、虫体的发育阶段和 Ni^{2+} 的胁迫世代等都有一定的联系。同时，能量物质的变化最终影响了第 3 代 5 龄和 6 龄幼虫的体重。然而，Ni^{2+} 胁迫对 *S. litura* 能量物质的影响是通过哪些代谢途径实现还有待于进一步的研究。

参 考 文 献 (References)

Begum G, Vijayaraghavans S, 1995. Carbohydrate metabolism in hepatic tissue of freshwater catfish *Claris batrachus* L. during dimethoate exposure. *Fd. Chem. Toxicol.*, 33: 423 - 426.

Bentivegna CS, 2002. Advancing monosaccharides as biomarkers: Part II. Effects of starvation and cadmium in *Chironomus riparius* as detected by fluorophore-assisted carbohydrate-electrophoresis. *Aquat. Toxicol.*, 61: 111 - 126.

Berntssen MHG, Lundebye AK, 2001. Energetics in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) parr fed elevated dietary cadmium. *Comp. Biochem. Physiol. C*, 128: 311 - 323.

Bischof C, 1995. Effects of heavy metal stress on carbohydrate and lipid concentrations in the haemolymph and total body tissue of parasitized *Lymantria dispar* L. larvae (Lepidoptera). *Comp. Biochem. Physiol.*,

112C: 87 – 92.

Bradford MM, 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principal of protein-dye binding. *Anal. Biochem.*, 72: 248 – 254.

Chen QJ, Li GH, Pang Y, 2000. A simple artificial diet for mass rearing of some noctuid species. *Chin. Bull. Entomol.*, 37(6): 325 – 327. [陈其津, 李广宏, 庞义, 2000. 饲养5种夜蛾科昆虫的一种简易人工饲料. 昆虫知识, 37(6): 325 – 327]

Chinni S, Yallapragada PR, 2002. Energy levels of *Penaeus indicus* postlarvae on exposure to lead. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 52: 173 – 179.

De Boeck G, Vlaeminck A, Blust R, 1997. Effects of sub-lethal copper exposures on copper accumulation, growth, food consumption, energy stores and nucleic acid content in common carp. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 33: 415 – 422

De Wolf, Lukambuzi L, Van den Broeck H, Smolders R, 2007. Spatio-temporal variation in energy content of the periwinkle *Littorina littorea*, along a pollution gradient in the western Scheldt estuary, The Netherlands. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 344: 78 – 87.

Dequesne S, Liess M, Bird DJ, 2004. Sub-lethal effects of metal exposure: Physiological and behavioural responses of the estuarine bivalve *Macoma balthica*. *Mar. Environ. Res.*, 58: 245 – 250.

Feng H, 1989. Biochemical Analysis Method of Entomology. Agriculture Press, Beijing. 8 – 15. [冯慧, 1989. 昆虫生物化学分析法. 北京: 农业出版社. 8 – 15]

Garrido S, Campo GMC, Esteller MV, Vaca R, Lugo J, 2005. Heavy metals in soil treated with sewage sludge composting, their effects on yield and uptake of broad bean seeds (*Vicia faba* L.). *Water Air Soil Pollut.*, 166: 303 – 319.

Gintenreiter S, Ortel J, Nopp HJ, 1993. Effects of different dietary levels of cadmium, lead, copper and zinc on the vitality of the forest pest insect *Lymantria dispar* L. (Lymantriidae: Lepidoptera). *Arch. Environ. Contain. Toxicol.*, 25: 62 – 66.

Graney RI, Giesy JPJ, 1986. Effects of long-term exposure to pentaclorophenol on the free amino acids pool and energy reserves of the freshwater amphopod *Gammarus pseudolimnaeus*. *Ecotoxocol. Environ. Saf.*, 12: 233 – 251.

Islam A, Roy S, 1983. Effect of $CdCl_2$ on the quantitative variation of carbohydrate, protein, amino acid and cholesterol in *Chrysocoris stolli* Wolf (Insecta: Hemiptera). *Curr. Sci.*, 52: 215 – 217.

Maryański M, Kramarz P, Laskowski R, Niklińska M, 2002. Decreased energetic reserves, morphological changes and accumulation of metals in carabid beetles (*Poecilus cupreus* L.) exposed to zinc- or cadmium-contaminated food. *Ecotoxicol.*, 11: 127 – 139.

Miliou H, Zaboukas N, Moraitou-Apostolopoulou M, 1998. Biochemical composition, growth, and survival of the guppy, *Poecilia reticulata*, during chronic sublethal exposure to cadmium. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 35: 58 – 63.

Nakamatsu Y, Tanaka T, 2003. Venom of ectoparasitoid, *Euplectrus* sp. near *plathypenae* (Hymenoptera: Eulophidae) regulates the physiological state of *Pseudaletia separata* (Lepidoptera: Noctuidae) host as a food resource. *J. Insect Physiol.*, 49: 149 – 159.

Ortel J, 1995. Effects of metals on the total lipid content in the gypsy moth (*Lymantria dispar*, Lymantriidae, Lepid.) and its hemolymph. *Bull. Environ. Contamin. Toxicol.*, 55: 216 – 221.

Ricard AC, Daniel C, Andersen P, Hontela A, 1998. Effects of subchronic exposure to cadmium chloride on encocrine and metabolic functions in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 34: 377 – 381.

SAS Institute Inc., 1989. SAS/STAT User's Guider. Ver. 6. 4th ed. Vol. 1 and 2. SAS Institute Inc., Cary, NC.

Schmidt GH, Ibrahim NMM, Abdallah MD, 1992. Long-term effects of heavy metals in food on developmental stages of *Aiolopus thalassinus* (Saltatoria: Acrididae). *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 23: 375 – 382.

Sheridan MA, Mommsen TP, 1991. Effects of nutritional state on *in vivo* lipid and carbohydrate metabolism of coho salmon, *Onchorhynchus kisutch*. *Gen. Com. Endocrinol.*, 81: 473 – 483.

Shin BS, Choi RN, Lee CU, 2001. Effects of cadmium on total lipid content and fatty acids of the greater wax moth, *Galleria mellonella*. *Korean J. Ecol.*, 24: 349 – 352.

Soengas JL, Agra-Lago MJ, Carballo B, Andrés MD, Veira JAR, 1996. Effects of an acute exposure to sublethal concentrations of cadmium on liver carbohydrate metabolism of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Environ. Contam. Toxicol.*, 57: 625 – 663.

Sun HX, Liu Y, Zhang GR, 2007. Effects of heavy metal pollution on insects. *Acta Entomol. Sin.*, 50(2): 178 – 185. [孙虹霞, 刘颖, 张古忍, 2007. 重金属污染对昆虫生长发育的影响. 昆虫学报, 50(2): 178 – 185]

Sun HX, Zhou Q, Tang WC, Shu YH, Zhang GR, 2007. Metallothionein expression induced by nickel accumulation in the midgut of *Spodoptera litura* Fabricius larvae exposed to nickel. *Chin. Sci. Bull.*, 52: 3 227 – 3 232.

Sun HX, Zhou Q, Tang WC, Shu YH, Zhang GR, 2008. Effects of dietary nickel on detoxification enzyme activities in midgut of *Spodoptera litura* Fabricius larvae. *Chin. Sci. Bull.*, 53: 3 324 – 3 330.

Wu GX, Ye GY, Hu C, Cheng JA, 2006. Accumulation of cadmium and its effects on growth, development and hemolymph biochemical compositions in *Boettcherisca peregrina* larvae (Diptera: Sarcophagidae). *Insect Science*, 13: 31 – 39.

(责任编辑: 赵利辉)